環境技術実証モデル事業

化学物質に関する簡易モニタリング技術分野

化学物質に関する簡易モニタリング技術
実証試験結果報告書

環境技術開発者	株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー
技術・製品の名称	技術：　ELISA法（酵素免疫測定法） 製品の名称：　カルバリル測定キットE

平成18年3月

兵　庫　県

はじめに

環境技術実証モデル事業は，既に適用可能な段階にありながら，環境保全効果等についての客観的な評価が行われていないために普及が進んでいない先進的環境技術について，その環境保全効果等を第三者が客観的に実証する事業をモデル的に実施することにより，環境技術実証の手法・体制の確立を図るとともに，環境技術の普及を促進し，環境保全と環境産業の発展に資することを目的とするものである。

本実証試験は，平成 17 年 5 月 16 日　環境省総合環境政策局が策定した実証試験要領（第 2 版）に基づいて選定された実証対象技術について，同実証試験要領に準拠して実証試験を実施することで，製品性能の信頼性等を客観的に実証するものである。

（実証項目）

- 製品性能の信頼性
- 一般環境モニタリングでの実用性
- 製品操作等の簡便性

本報告書は，実証試験計画書に基づき実施した試験結果を取りまとめたものである。

（実証機関）

兵庫県立健康環境科学研究センター

所長　吉村　幸男

要　　約

製品名称	カルバリル測定キット E
環境技術開発者	株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー
実証機関	兵庫県
対象物質	殺虫剤　カルバリル
実証試験の実施期間	平成 17 年 10 月 27 日～12 月 14 日

１．実証対象技術の概要

この実証対象製品は，申請者が開発したカルバリルに対する特異的なモノクローナル抗体を応用した，環境水等のカルバリル測定 ELISA キットである。

この ELISA キットの反応原理は競合反応（カルバリル濃度が高い試料では吸光度が低く，カルバリル濃度が低い試料では吸光度が高い）で，マイクロプレート（96 ウェル）を使用したキットである。

２．実証試験の概要

実証試験項目の内容は，次のとおりである。

項　目	内　容
１．基本的な性能	
(1)測定範囲	市販標準品で調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いた ELISA 測定値の変動等に基づき，数値的な設定の妥当性を実証する。
(2)検出下限及び定量下限	市販標準品で調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いて同一条件での同一操作の繰返しによる ELISA 測定値の標準偏差に基づき，数値的な設定の妥当性を実証する。
(3)繰返し再現性	市販標準品で調製した指定濃度系列の中央付近の試験用試料（濃度既知）を用いて同一条件での同一操作の繰返しによる ELISA 測定値の変動等に基づき，再現性の妥当性を実証する。
(4)日間再現性	同一測定者が市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて異なる条件（日付）での同一操作による ELISA 測定値の変動等に基づき，再現性の妥当性を実証する。
(5)期間再現性	市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて製造後一定期間経過した製品の操作による ELISA 測定値の変動等に基づき，再現性の妥当性を実証する。
(6)プレート間再現性	市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて異なるロットや異なるプレート間での ELISA 測定値の変動等に基づき，再現性の妥当性を実証する。

(7)交差反応性	市販標準物質及び類似物質を用い調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いて類似物質別の ELISA 測定値の相違等に基づき，交差反応性を実証する。
2．実用的な性能	
(1)回収特性	環境試料を模擬し市販標準品で指定濃度範囲の中央付近の 1 濃度に混合調製した試験用試料（濃度既知）を用いた ELISA 測定値の比較に基づき，回収特性を実証する。
(2)測定精度	複数の河川地点から得られた河川水の環境試料（濃度未知）を用いた ELISA 測定値の変動や操作手順・操作方法の特徴等に基づき，測定精度，前処理妥当性，操作簡便性等による環境試料への適用性を実証する。

３．実証対象製品のデータ

環境技術開発者より提出された実証対象製品のデータは、次のとおりである。

項目	記　入　欄
製品名	カルバリル測定キット E
型番	EL208-01
販売・製造元	販売・製造　：　株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー
重量（キット一式，g）	350g
価格（円）	99,750 円
分析対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象環境媒体	水質・底質・生物・その他（　）
利用用途	環境水その他の水質モニタリング
標準試薬・種類	付属（調整済／調整要）
操作環境（室温）	室温（15～25℃）
製品保管条件	4～8℃
製品保証期間	製造後 12 ヶ月間
同時測定数（最多）	46 試料（2 重測定）
測定時間	2~3 時間

注)　実証対象製品の基本的な性能及び実用的な性能は，次表の製品データのとおり。

４．実証試験結果の概要

項目		結果概要	
実証機関		兵庫県	
製品名称		カルバリル測定キットE	
環境技術開発者		株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー	
対象物質		殺虫剤　カルバリル	
実証試験計画書の策定		平成 17 年 10 月 3 日	
実証試験の実施期間		平成 17 年 10 月 27 日～12 月 14 日	
（1）基本的な性能		実験データ	【参考：製品データ】
	①測定範囲	調製濃度 1.5～30μg/L（4 濃度系列）での CV：3.7～14.8%，相対値：111～183% 試験で得られた測定範囲：1.5～30μg/L	1.5～30μg/L
	②検出下限および定量下限	調製濃度 1.5μg/L の SD から求めた場合 検出下限（3SD：検出下限 1）：0.47μg/L 定量下限（10SD）：1.6μg/L 濃度 0μg/L の吸光度から求めた場合 検出下限 2：1.0μg/L	測定下限：1.5μg/L
	③繰返し再現性	調製濃度 5μg/L での CV：4.2% （SD：0.23μg/L）	測定濃度 3.6～22.7μg/L での CV：6.9～11.4% （ほうれん草ホモジェネート への添加試料）
	④日間再現性	調製濃度 1.5～30μg/L で，同一週の 3 日間に測定した場合の CV：14.9～19.7% （19.7%は 30μg/L の場合）	測定濃度 2.6～21.9μg/L での CV：5.7～36.4% （ほうれん草ホモジェネート への添加試料）
	⑤期間再現性	調製濃度 1.5～30μg/L で，1 ヶ月を隔てて 2 回測定した場合の CV： 最　初　：3.7～14.8 ％ 1 ヶ月後：3.0～9.0 ％	製品保証期間 12 ヶ月， 保存安定性試験結果 5 ヶ月
	⑥プレート間再現性	調製濃度 1.5～30μg/L で，同ロットプレート 2 枚，異ロットプレート 1 枚間の CV：1.5～38.1% （38.1%は 30μg/L の場合）	－
	⑦交差反応性	交差反応率： ベンダイオカルブ：29.5% フェントエート：<0.1% ピリブチカルブ：0.9%	交差反応率： ベンダイオカルブ：26.1% フェントエート：2.8%
（2）実用的な性能			
	①回収特性	対象物質を 5μg/L 添加した河川水に，フミン酸ナトリウムを添加（0～50mg/L）した場合の回収影響率：97～133%	ほうれん草ホモジェネートへの添加回収率： 添加濃度 150μg/L：124.9% 500μg/L：144.3% 750μg/L：142.5%
	②測定精度等	3 河川水全てについて，ELISA 法，機器分析法（GC/MS）ともに不検出のため，標準を低濃度（0.2μg/L）添加し，100 倍濃縮により測定。変動係数，回収率ともに概ね良好。GC/MS の結果との相関は r=0.992。	－

結果の検討と考察

1）製品性能の信頼性

実証試験で実施した基本性能 7 項目の結果から，メーカーの申請どおり 1.5〜30μg/L の濃度範囲において概ね妥当な製品性能の信頼性を確認した。ただし，検量線の曲線部分に当たる特に高濃度側で，実測濃度（相対値）が高めに出る傾向があり，留意する必要がある。

2）一般環境モニタリングでの実用性

妥当な感度，精度を有しており，前処理で適当な濃縮を行えばさらに感度の上昇が期待される。本試験の検討範囲では環境水中のマトリックスの影響は軽微と考えられることから，実用化は可能である。

3）製品操作等の簡便性

一般環境モニタリングでの使用を想定した場合，試料の前処理から測定結果が得られるまで 4〜5 時間であり，同時に約 25 試料（3 重測定）の測定が可能となる。したがって，操作の簡便性は高いと言える。取扱説明書の記述も概ね妥当である。

本　　編

目　次

1．実証試験の概要

1.1 実証対象製品のデータ

環境技術開発者より提出された実証対象製品のデータは，下表に示すとおりである。

表１　実証対象製品のデータ

項目	記　入　欄
技術・製品の名称	ELISA 法（酵素免疫測定法）　カルバリル測定キット E
実証申請者	株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー
実証試験実施者	兵庫県立健康環境科学研究センター
実証試験実施場所	〒654-0037　神戸市須磨区行平町 3-1-27
実証試験実施期間	平成 17 年 10 月 27 日　～　12 月 14 日
製品名	カルバリル測定キット E
型番	EL208-01
販売・製造元	販売・製造　：　株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー
重量（g）	350g
価格（円）	99,750 円
分析対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象環境媒体	水質・底質・生物・その他（　）
利用用途	環境水その他の水質モニタリング
標準試薬・種類	付属（調整済／調整要）
操作環境（室温）	室温（15～25℃）
製品保管条件	4～8℃
製品保証期間	製造後 12 ヶ月間
同時測定数（最多）	46 試料（2 重測定）
全体測定時間	2~3 時間

1.2 実証試験結果

環境技術開発者が実証申請書に示した基本的な性能に関するデータと実証試験結果とは概ね一致した。ただし，検量線の曲線部分に当たる特に高濃度側で，実測濃度（相対値）が高めに出る傾向がみられた。実用的な性能に関しては概ね良好な結果が得られた。

(1) 基本的な性能

① 測定範囲

申請データ：1.5～30 µg/L　　　実証データ：1.5～30 µg/L

② 検出下限及び定量下限

申請データ：測定下限 1.5 µg/L（検出下限，定量下限のデータなし）

実証データ：検出下限 1　0.47 µg/L，検出下限 2　1.0 µg/L，定量下限 1.6 µg/L

検出下限 1：指定濃度系列下限付近の濃度についての 8 回繰り返し測定で得られた測定濃度の標準偏差（SD）より，3 倍の値（3SD）として得られた値。定量下限はこの標準偏差の 10 倍の値（10SD）。

検出下限 2：指定濃度系列 0 濃度についての 10 回繰り返し測定で得られた吸光度の標準偏差（SD）の 3SD 値を，0 濃度の吸光度から差し引いた吸光度より，検量線で換算された値。

③ 繰返し再現性

申請データ：測定濃度 3.6～22.7µg/L における変動係数 6.9～11.4%
（ほうれん草ホモジェネートへの添加試料）

実証データ：測定濃度 5 µg/L における変動係数 4.2%

④ 日間再現性

申請データ：測定濃度 2.6～21.9µg/L における変動係数 5.7～36.4%
（ほうれん草ホモジェネートへの添加試料）

実証データ：測定濃度 1.5µg/L における変動係数 14.9%，3µg/L における変動係数 18.4%，15µg/L における変動係数 19.6%，30µg/L における変動係数 19.7%

⑤ 期間再現性

申請データ：製品保証期間 12 ヶ月，保存安定性試験結果 5 ヶ月

実証データ：測定濃度 1.5μg/L における変動係数 6.5～8.5%，3μg/L における変動係数 4.4～9.0%，15μg/L における変動係数 3.0～3.7%，30μg/L における変動係数 1.8～14.8%

⑥ プレート間再現性

申請データ：記述なし

実証データ：測定濃度 1.5μg/L における変動係数 3.6%，3μg/L における変動係数 1.5%，15μg/L における変動係数 8.0%，30μg/L における変動係数 38.1%

⑦ 交差反応性

申請データ：ベンダイオカルブ 26.1%，フェントエート 2.8%

実証データ：ベンダイオカルブ 29.5%，フェントエート <0.1%，
ピリブチカルブ 0.9%

(2) 実用的な性能

① 回収特性

申請データ：回収率 124.9～144.3%（150～750 μg/L：ほうれん草ホモジェネートへの添加）

実証データ：回収影響率 97～133%（5 μg/L：河川水への添加）
妨害物質：フミン酸ナトリウム　0～50mg/L

② 測定精度等

申請データ：記述なし

実証データ：実試料（河川水）3 試料について，機器分析法（GC/MS）による結果ともに不検出であったので，標準を低濃度（0.2 μg/L）添加し，100 倍の濃縮を行って測定した。いずれの添加試料でも，変動係数，回収率ともに概ね良好な結果が得られ，機器分析による結果との相関は r=0.992 であった。

2. 実証対象技術及び実証対象製品の特性と説明

2.1 実証申請者

企　業　名：株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー

担当者所属・氏名：試薬事業部　開発・製造部 部長　伊東　茂壽

住　　所　：〒601-8315　京都市南区車道町 48 番地

電話番号　：075-692-1786

ＦＡＸ番号：075-692-1790

e-mail アドレス：Shigekazu.ito@horiba.com

2.2 実証対象技術の原理

本実証対象製品は，殺虫剤のカルバリルに対する特異的なモノクローナル抗体を応用した，水質中のカルバリル測定 ELISA キットである。

2.3 実証対象製品のデータ（性能，製品製造者，製品番号等）

実証対象製品のデータは，表１に示したとおりである。

3．実証試験実施体制

3.1 実証試験申請者

所属部署　：兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部

担当者氏名：中野　武

住　　所　：〒654-0037　神戸市須磨区行平町 3-1-27

電話番号　：078-735-6911

ＦＡＸ番号：078-735-7817

e-mail アドレス：Takeshi_nakano@pref.hyogo.jp

3.2 実証試験実施者

所属部署　：兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部

担当者氏名：古武家　善成

住　　所　：〒654-0037　神戸市須磨区行平町 3-1-27

電話番号　：078-735-6911

ＦＡＸ番号：078-735-7817

e-mail アドレス：Yoshinari_kobuke@pref.hyogo.jp

3.3 実証試験実施場所

(1) ELISA 法

兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部

(2) 機器分析法

兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部

3.4 実証試験実施期間

平成 17 年 10 月 27 日　～　平成 17 年 12 月 14 日

4. 試験方法

4.1 共通して行う試験操作

「4.2 基本的な性能」および「4.3 実用的な性能」において，以下の方法は共通である。

(1) 製品の操作

製品の操作にあたっては，製品の取扱説明書を遵守するとともに，ELISA 分析に係わる品質管理マニュアルの試験操作手順（一般的な事項）に従って行った。

(2) 検量線作成用標準溶液の調製

製品の取扱説明書に記載の方法により，検量線用標準溶液の希釈系列を調製した。

(3) 吸光度の測定

吸光度は，マイクロプレートリーダー（日本バイオ・ラッドラボラトリーズ(株)社製 マイクロプレートリーダー　モデル 680）で測定し，検量線作成用標準溶液および各試験用試料溶液の吸光度とした。

(4) 検量線の作成

プレート毎に同時に波長 450nm で測定した標準溶液指定濃度系列の吸光度（３重測定の平均値）から，4-parameter logistic fitting 後，検量線を作成した（検量線作成用の解析ソフト：バイオメタリクス社製　デルタソフト）。

(5) 実測濃度の算出

「(4)検量線の作成」で作成した検量線を用いて，各試験用試料溶液の吸光度から各実測濃度を算出した。

4.2 基本的な性能

(1) 測定範囲

① 試験条件

本製品の測定範囲における試験条件は，下表に示すとおりである。

表 4.2.1　**測定範囲の試験条件**

項目	内容
実証項目	基本的な性能・測定範囲（標準試料試験）
対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象製品名	カルバリル測定キット E
製品番号	ロット番号　E-CBR001F
製造年月日	－（有効期限：2006.9）
測定範囲（製品仕様）	1.5 ～ 30μg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 27 日　17：00～20：00
試験場所	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部
試験時室内温度	22℃
使用した市販標準品	カルバリル標準品　残留農薬試験用 和光純薬工業(株)社製　製品番号 148-03831　ロット番号 YPH8135
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC（Windows） （日本バイオ・ラッドラボラトリーズ社製）
試験機関・担当者	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部　古武家善成

② 試験操作

実証試験計画書に従い試験を実施した。

(2) 検出下限および定量下限

① 試験条件

本製品の検出下限および定量下限における試験条件は，下表に示すとおりである。

表 4.2.2　**検出下限および定量下限の試験条件**

項目	内容
実証項目	基本的な性能・検出下限および定量下限（標準試料試験）
対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象製品名	カルバリル測定キット E
製品番号	ロット番号　E-CBR001F
製造年月日	－（有効期限：2006.9）
測定範囲（製品仕様）	1.5 ～ 30μg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 27 日　17：00～20：00
試験場所	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部
試験時室内温度	22℃
使用した市販標準品	カルバリル標準品　残留農薬試験用 和光純薬工業(株)社製　製品番号 148-03831　ロット番号 YPH8135
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC（Windows） （日本バイオ・ラッドラボラトリーズ社製）
試験機関・担当者	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部　古武家善成

② 試験操作

実証試験計画書に従い試験を実施した。

(3) 繰返し再現性

① 試験条件

本製品の繰返し再現性における試験条件は，下表に示すとおりである。

表 4.2.3　**繰返し再現性の試験条件**

項目	内容
実証項目	基本的な性能・繰返し再現性（標準試料試験）
対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象製品名	カルバリル測定キット E
製品番号	ロット番号　E-CBR001F
製造年月日	ー（有効期限：2006.9）
測定範囲（製品仕様）	1.5 ～ 30μg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 27 日　17：00～20：00
試験場所	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部
試験時室内温度	22℃
使用した市販標準品	カルバリル標準品　残留農薬試験用 和光純薬工業(株)社製　製品番号 148-03831　ロット番号 YPH8135
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC（Windows） （日本バイオ・ラッドラボラトリーズ社製）
試験機関・担当者	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部　古武家善成

② 試験操作

実証試験計画書に従い試験を実施した。

(4) 日間再現性

① 試験条件

本製品の日間再現性における試験条件は，下表に示すとおりである。

表 4.2.4　日間再現性の試験条件

項目	内容
実証項目	基本的な性能・日間再現性（標準試料試験）
対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象製品名	カルバリル測定キット E
製品番号	ロット番号　E-CBR001F
製造年月日	－（有効期限：2006.9）
測定範囲（製品仕様）	1.5 ～ 30μg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 27 日　17：00～22：00 平成 17 年 10 月 31 日　 9：30～16：25 平成 17 年 11 月　2 日　10：00～17：50
試験場所	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部
試験時室内温度	22℃(10/27)，21±1℃(10/31)，21℃(11/2)
使用した市販標準品	カルバリル標準品　残留農薬試験用 和光純薬工業(株)社製　製品番号 148-03831　ロット番号 YPH8135
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC（Windows） （日本バイオ・ラッドラボラトリーズ社製）
試験機関・担当者	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部　古武家善成

② 試験操作

実証試験計画書に従い試験を実施した。

(5) 期間再現性

① 試験条件

本製品の期間再現性における試験条件は，下表に示すとおりである。

表 4.2.5　**期間再現性の試験条件**

項目	内容
実証項目	基本的な性能・期間再現性（標準試料試験）
対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象製品名	カルバリル測定キット E
製品番号	ロット番号　E-CBR001F
製造年月日	ー（有効期限：2006.9）
測定範囲（製品仕様）	1.5 ～ 30μg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 27 日　17：00～20：00 平成 17 年 11 月 29 日　16：00～22：30
試験場所	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部
試験時室内温度	22℃(10/27)，22℃(11/29)
使用した市販標準品	カルバリル標準品　残留農薬試験用 和光純薬工業(株)社製　製品番号 148-03831　ロット番号 YPH8135
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC（Windows） （日本バイオ・ラッドラボラトリーズ社製）
試験機関・担当者	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部　古武家善成

② 試験操作

実証試験計画書に従い試験を実施した。

(6) プレート間再現性

① 試験条件

本製品のプレート間再現性における試験条件は，下表に示すとおりである。

表 4.2.6 プレート間再現性の試験条件

項目	内容
実証項目	基本的な性能・プレート間再現性（標準試料試験）
対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象製品名	カルバリル測定キット E
製品番号	ロット番号　E-CBR001F，E-CBR002F
製造年月日	－（有効期限：2006.9）　（E-CBR001F） －（有効期限：2006.10）（E-CBR002F）
測定範囲（製品仕様）	1.5 ～ 30μg/L
試験日時	平成 17 年 11 月 1 日　 13：15～21：30
試験場所	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部
試験時室内温度	21±1℃
使用した市販標準品	カルバリル標準品　残留農薬試験用 和光純薬工業(株)社製　製品番号 148-03831　ロット番号 YPH8135
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC（Windows） （日本バイオ・ラッドラボラトリーズ社製）
試験機関・担当者	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部　古武家善成

② 試験操作

実証試験計画書に従い試験を実施した。

(7) 交差反応性

① 試験条件

本製品の交差反応性における試験条件は，下表に示すとおりである。

表 4.2.7　交差反応性の試験条件

項目	内容
実証項目	基本的な性能・交差反応性（標準試料試験）
対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象製品名	カルバリル測定キット E
製品番号	ロット番号　E-CBR001F
製造年月日	－（有効期限：2006.9）
測定範囲（製品仕様）	1.5 ～ 30μg/L
試験日時	平成 17 年 11 月 2 日　10：00～17：50
試験場所	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部
試験時室内温度	21℃
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC（Windows） （日本バイオ・ラッドラボラトリーズ社製）
試験機関・担当者	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部　古武家善成

表 4.2.8　使用した市販標準品

物質名（標準品）		試薬会社名	規格	含量	製品番号	ロット番号
対象物質	カルバリル	和光純薬工業(株)社製	残留農薬試験用	200mg	148-03831	YPH8135
類似物質	ベンダイオカルブ	和光純薬工業(株)社製	残留農薬試験用	200mg	028-11691	HSN9411
	フェントエート	和光純薬工業(株)社製	残留農薬試験用	200mg	160-09133	HSN9453
	ピリブチカルブ	和光純薬工業(株)社製	残留農薬試験用	200mg	167-16211	YPH8138

② 試験操作

実証試験計画書に従い試験を実施した。

4.3 実用的な性能

(1) 回収特性

① 試験条件

本製品の回収特性における試験条件は，下表に示すとおりである。

表 4.3.1　回収特性の試験条件

項目	内容
実証項目	実用的な性能・回収特性（模擬環境試料試験）
対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象製品名	カルバリル測定キット E
製品番号	ロット番号　E-CBR001F
製造年月日	－（有効期限：2006.9）
測定範囲（製品仕様）	1.5 ～ 30μg/L
試験日時	平成 17 年 11 月 21 日　10：20～21：45
試験場所	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部
試験時室内温度	20±2℃
使用した市販標準品	カルバリル標準品　残留農薬試験用 和光純薬工業(株)社製　製品番号 148-03831　ロット番号 YPH8135
使用した模擬環境試料	フミン酸ナトリウム アクロス社製　製品番号 120860050　ロット番号 A0207160001
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC（Windows） （日本バイオ・ラッドラボラトリーズ社製）
試験機関・担当者	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部　古武家善成

② 試験操作

実証試験計画書に従い試験を実施した。

(2) 測定精度等

① 試験条件

本製品の測定精度等における試験条件は，下表に示すとおりである。

表 4.3.2　測定精度等の試験条件

項目	内容
実証項目	実用的な性能・測定精度等（環境試料試験）
対象物質	殺虫剤　カルバリル
対象製品名	カルバリル測定キット E
製品番号	ロット番号　E-CBR001F
製造年月日	ー（有効期限：2006.9）
測定範囲（製品仕様）	1.5 ～ 30μg/L
試験日時	平成 17 年 12 月 14 日　10：30～22：30
試験場所	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部
試験時室内温度	19±1℃
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC（Windows） （日本バイオ・ラッドラボラトリーズ社製）
試験機関・担当者	兵庫県立健康環境科学研究センター 安全科学部　古武家善成

表 4.3.3　使用した環境試料

試料番号	地点名	採水日	採水量	備考
S1	杉原川　春日橋	平成 17 年 12 月 7 日	1L	pH7.4，BOD0.6mg/L
S2	美の川　美の川橋	平成 17 年 12 月 7 日	1L	pH8.4，BOD1.6mg/L
S3	千鳥川　平安橋	平成 17 年 12 月 7 日	1L	pH7.7，BOD0.8mg/L

② 試験操作

実証試験計画書に従い試験を実施した。

5. 試験結果

5.1 基本的な性能

(1) 測定範囲

① 検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は，以下に示すとおりである。

表 5.1.1 **「測定範囲試験」検量線用標準溶液の測定データ**

項目		単位	検量線用標準溶液				
			ﾌﾞﾗﾝｸ	溶液 STD1	溶液 STD2	溶液 STD3	溶液 STD4
所定濃度		μg/L	0	1.5	3	15	30
実測回数		回	3	3	3	3	3
ELISA 実測 B/B0*	1	―	1.085	0.859	0.703	0.282	0.164
	2	―	0.981	0.763	0.665	0.268	0.157
	3	―	0.934	0.783	0.615	0.273	0.158

* 添付標準 0μg/L の平均吸光度を B0 とした。

表 5.1.2 **採用した回帰式係数**[Y = D + (A - D)/(1 + (X / C)^B]

回帰式の係数	A	B	C	D	R^2
値	1.00	1.27	4.33	0.107	―

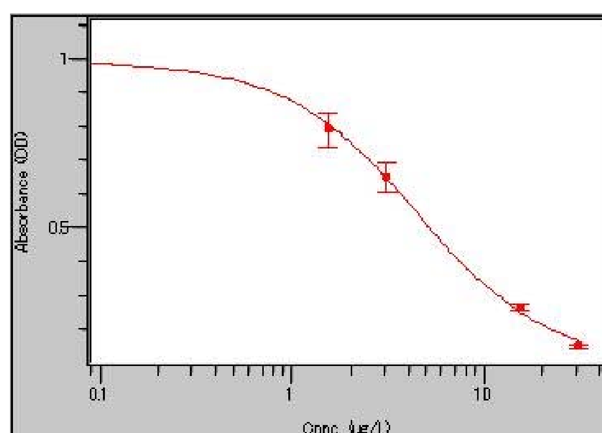


図 5.1.1 検量線

② 試験結果記録

本製品における対象物質の測定データは，以下に示すとおりである。

表 5.1.3 **「測定範囲試験」対象物質試料溶液の測定データ**

項目		単位	試験用試料溶液			
			溶液 S1	溶液 S2	溶液 S3	溶液 S4
調製濃度		μg/L	1.5	3	15	30
実測回数		回	3	3	3	3
ELISA 実測 B/B0*	1	−	0.751	0.592	0.240	0.135
	2	−	0.760	0.592	0.243	0.142
	3	−	0.731	0.614	0.250	0.147
	平均	−	0.747	0.600	0.244	0.142
換算値	1	μg/L	2.1	3.8	17.1	63.8
	2	μg/L	2.0	3.8	16.7	53.3
	3	μg/L	2.2	3.5	15.9	47.8
	平均	μg/L	2.09	3.68	16.6	55.0
標準偏差		μg/L	0.13	0.16	0.61	8.12
変動係数		%	6.5	4.4	3.7	14.8
相対値**		%	139	123	111	183

* 添付標準 0μg/L の平均吸光度を B0 とした。
** 調整濃度を 100%とした時の各実測濃度（3 重測定の平均値）との割合（%）

評　価

試験用標準物質を用いて，メーカーが指定する検量線用 4 濃度系列で測定範囲を検討した結果，4 濃度系列のいずれの濃度でも変動係数は 20%以内に入り，良好な結果が得られた。したがって，測定範囲は，メーカーの申請データどおり 1.5〜30μg/L と判断される。ただし，検量線の曲線部分に当たる低濃度側および高濃度側では相対値が大きくなっており（特に，高濃度側 30μg/L では 183%），留意する必要がある。

(2) 検出下限および定量下限

① 検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は，以下に示すとおりである。

表 5.1.7　**「検出下限および定量下限試験」検量線用標準溶液の測定データ**

項目		単位	検量線用標準溶液				
			ﾌﾞﾗﾝｸ	溶液 STD1	溶液 STD2	溶液 STD3	溶液 STD4
所定濃度		μg/L	0	1.5	3	15	30
実測回数		回	3	3	3	3	3
ELISA 実測 B/B0*	1	－	1.085	0.859	0.703	0.282	0.164
	2	－	0.981	0.763	0.665	0.268	0.157
	3	－	0.934	0.783	0.615	0.273	0.158

* 添付標準 0μg/L の平均吸光度を B0 とした。

表 5.1.8　**採用した回帰式係数**[Y = D + (A - D)/(1 + (X / C)^B]

回帰式の係数	A	B	C	D	R^2
値	1.00	1.27	4.33	0.107	－

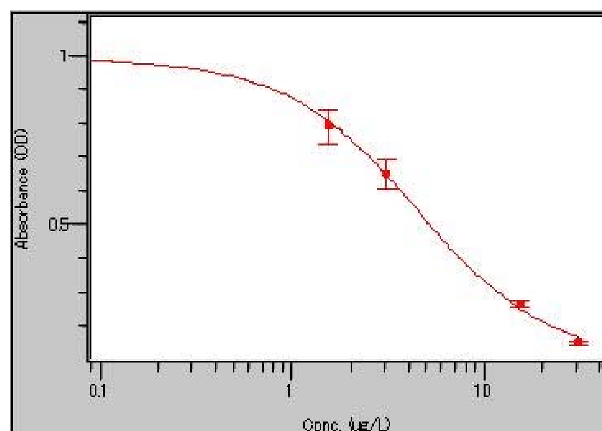


図 5.1.2　**検量線**

② 試験結果記録

本製品における対象物質の測定データは，以下に示すとおりである。

表 5.1.9 **「検出下限および定量下限試験」対象物質試料溶液の測定データ**

項目		単位	試験用試料溶液							
			溶液 S1							
調製濃度		μg/L	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
実測回数		回	1	2	3	4	5	6	7	8
ELISA 実測 B/B0*	1	―	0.738	0.726	0.740	0.761	0.723	0.737	0.745	0.686
	2	―	0.771	0.728	0.741	0.743	0.742	0.702	0.746	0.702
	3	―	0.769	0.765	0.723	0.718	0.720	0.702	0.727	0.732
	平均	―	0.759	0.740	0.734	0.741	0.728	0.714	0.739	0.707
換算値		μg/L	1.97	2.15	2.20	2.14	2.26	2.40	2.16	2.47
平均		μg/L	2.22							
標準偏差		μg/L	0.16							
変動係数		%	7.0							

* 添付標準 0μg/L の平均吸光度を B0 とした。

上表の標準偏差から求めた検出下限および定量下限は，以下のとおりである。

検出下限（3SD：検出下限 1）　＝0.47μg/L

定量下限（10SD）＝1.6μg/L

また，濃度 0μg/L の吸光度を 10 回測定し，その標準偏差（SD）から得られる 3SD 値（吸光度）を濃度 0μg/L の平均吸光度から差し引いた吸光度より，検量線を用いて換算した検出下限（検出下限 2）は，以下のとおりである。

検出下限 2 ＝1.0μg/L

評　価

メーカーが申請する下限濃度（1.5μg/L）を用いた試験結果より，標準偏差（SD）から求めた検出下限（3SD）および定量下限は，それぞれ 0.47μg/L および 1.6μg/L となった。また，濃度 0μg/L の吸光度から求めた検出下限は 1.0μg/L であった。この結果は，(1)-②で判断された測定範囲の下限（1.5μg/L）とよく一致すると言える。

(3) 繰返し再現性

① 検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は，以下に示すとおりである。

表 5.1.10　**「繰返し再現性試験」検量線用標準溶液の測定データ**

項目		単位	検量線用標準溶液				
			ﾌﾞﾗﾝｸ	溶液 STD1	溶液 STD2	溶液 STD3	溶液 STD4
所定濃度		μg/L	0	1.5	3	15	30
実測回数		回	3	3	3	3	3
ELISA 実測 B/B0*	1	－	1.085	0.859	0.703	0.282	0.164
	2	－	0.981	0.763	0.665	0.268	0.157
	3	－	0.934	0.783	0.615	0.273	0.158

* 添付標準 0μg/L の平均吸光度を B0 とした。

表 5.1.11　**採用した回帰式係数**[Y = D + (A - D)/(1 + (X / C)^B]

回帰式の係数	A	B	C	D	R^2
値	1.00	1.27	4.33	0.107	－

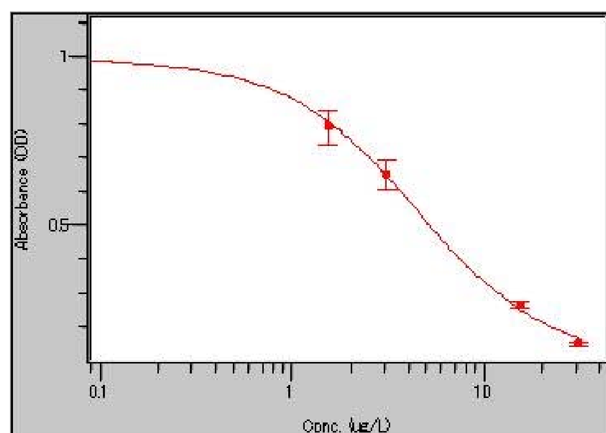


図 5.1.3　**検量線**

② 試験結果記録

本製品における対象物質の測定データは，以下に示すとおりである。

表 5.1.12　**「繰返し再現性試験」対象物質試料溶液の測定データ**

項目			単位	試験用試料溶液 溶液 S							
調製濃度			μg/L	5	5	5	5	5	5	5	5
実測回数			回	1	2	3	4	5	6	7	8
ELISA 実測 B/B0*	吸光度	1	—	0.483	0.507	0.491	0.479	0.449	0.472	0.500	0.443
		2	—	0.491	0.510	0.505	0.491	0.496	0.487	0.489	0.484
		3	—	0.481	0.492	0.498	0.485	0.489	0.482	0.468	0.469
		平均	—	0.485	0.503	0.498	0.485	0.478	0.481	0.486	0.465
	換算値		μg/L	5.53	5.18	5.27	5.52	5.67	5.61	5.51	5.93
平均			μg/L	5.53							
標準偏差			μg/L	0.23							
変動係数			%	4.2							

* 添付標準 0μg/L の平均吸光度を B0 とした。

評　価

検量線濃度系列の中間濃度に相当する濃度 5μg/L で，8 回繰返し試験を行った場合の変動係数は 4.2%となり，繰返し再現性は良好と判断される。

(4) 日間再現性

① 検量線作成記録

本製品における 1 日目の検量線の作成記録は，以下に示すとおりである。

表 5.1.13　**「日間再現性試験**1**日目」検量線用標準溶液の測定データ**

項目		単位	検量線用標準溶液				
			ﾌﾞﾗﾝｸ	溶液 STD1	溶液 STD2	溶液 STD3	溶液 STD4
所定濃度		μg/L	0	1.5	3	15	30
実測回数		回	3	3	3	3	3
ELISA 実測 B/B0*	1	－	1.085	0.859	0.703	0.282	0.164
	2	－	0.981	0.763	0.665	0.268	0.157
	3	－	0.934	0.783	0.615	0.273	0.158

* 添付標準 0μg/L の平均吸光度を B0 とした。

表 5.1.14　**採用した回帰式係数**[Y = D + (A - D)/(1 + (X / C)^B]

回帰式の係数	A	B	C	D	R^2
値	1.00	1.27	4.33	0.107	－

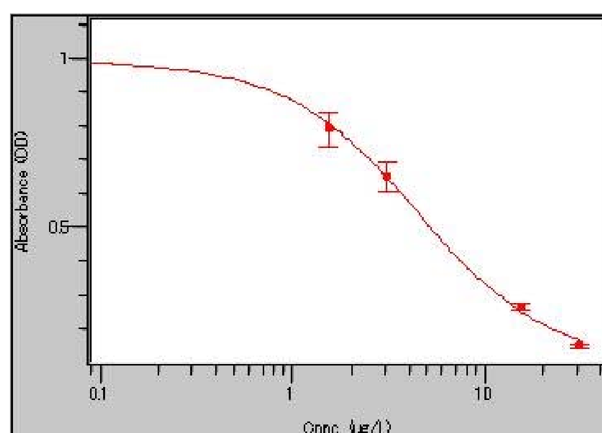


図 5.1.4　**検量線**

本製品における 4 日目の検量線の作成記録は，以下に示すとおりである。

表 5.1.15 「日間再現性試験4日目」検量線用標準溶液の測定データ

項目		単位	検量線用標準溶液				
			ﾌﾞﾗﾝｸ	溶液 STD1	溶液 STD2	溶液 STD3	溶液 STD4
所定濃度		μg/L	0	1.5	3	15	30
実測回数		回	3	3	3	3	3
ELISA 実測 B/B0*	1	—	1.104	0.756	0.618	0.238	0.145
	2	—	0.967	0.698	0.578	0.236	0.143
	3	—	0.929	0.693	0.565	0.239	0.144

* 添付標準 0μg/L の平均吸光度を B0 とした。

表 5.1.16 採用した回帰式係数[Y = D + (A - D)/(1 + (X / C)^B]

回帰式の係数	A	B	C	D	R^2
値	1.00	1.16	3.26	0.0956	—

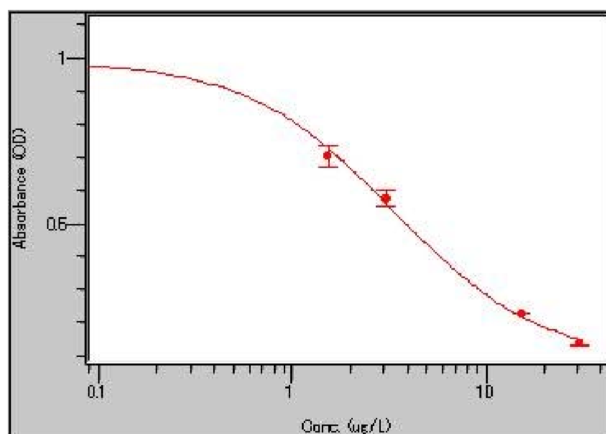


図 5.1.5 検量線